

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : G01N 21/76, 21/03	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/16075
		(43) Date de publication internationale: 23 mars 2000 (23.03.00)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/02170

(22) Date de dépôt international: 13 septembre 1999 (13.09.99)

(30) Données relatives à la priorité:
98/11375 11 septembre 1998 (11.09.98) FR(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): BIOTROL
DIAGNOSTIC [FR/FR]; 2, rue d'Epiais, F-95380 Chen-
nevières-les-Louvres (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): GICQUEL,
Thierry [FR/FR]; Domaine des Greens, 55, rue
Vieille-Saint-Martin, F-95800 Courdimanche (FR).
LENTWOJT, Edouard [FR/FR]; 5, Allée Marcel Philippe,
F-60340 Saint-Leu d'Esserent (FR).(74) Mandataires: ORES, Béatrice etc.; Cabinet Ores, 6, avenue de
Messine, F-75008 Paris (FR).(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,
BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE,
SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN,
YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD,
SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ,
MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE),
brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

Avec rapport de recherche internationale.

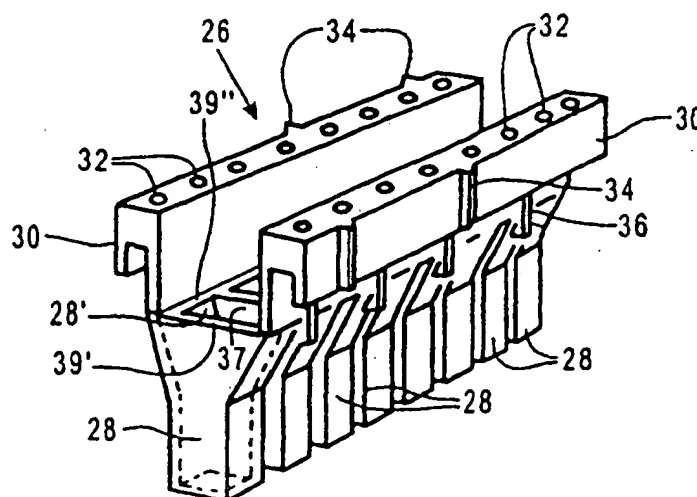
(54) Title: REACTION WELLS, ASSEMBLY THEREOF, IMMUNOASSAY APPARATUS AND METHOD USING SUCH WELL
ASSEMBLIES(54) Titre: CUVETTES DE REACTION, ENSEMBLE DE TELLES CUVETTES, APPAREIL DE DOSAGE IMMUNOLOGIQUE ET
PROCÉDE METTANT EN OEUVRE DE TELS ENSEMBLES DE CUVETTES

(57) Abstract

The invention mainly concerns reaction wells, and sets thereof for an automatic immunoassay apparatus, and an immunoassay apparatus as well as a method using such an assembly of wells. The method consists in producing a photometric detection of luminescence in a reaction mixture in a reaction well (28), the apparatus and/or the well blocking out the light to prevent the measurement from being distorted by light input. Advantageously, the sets of wells (26) of the invention are made of an opaque material. The invention is particularly useful for detecting the presence of a chemical or biological substance in a sample. It is mainly applicable for analysis and research in medicine.

(57) Abrégé

La présente invention se rapporte principalement à des cuvettes de réaction, à des ensembles de telles cuvettes pour appareils automatiques de dosage immunologique, à des appareils automatiques de dosage immunologique mettant en oeuvre de tels ensembles de cuvettes et à un procédé mettant en oeuvre des ensembles de telles cuvettes. Selon la présente invention on met en oeuvre une détection photométrique de luminescence d'un mélange réactionnel se trouvant dans une cuvette de réaction (28), l'appareil et/ou la cuvette assurant l'étanchéité à la lumière pour éviter qu'une entrée de lumière externe fausse la mesure. Avantagusement, les ensembles de cuvettes (26) selon la présente invention sont réalisés dans un matériau opaque. La présente invention s'applique notamment à la détection de la présence d'une substance chimique ou biologique dans un échantillon. La présente invention s'applique principalement à l'analyse et à la recherche médicale.



UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TC	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

416 Rec'd PCT/PTO 1 0 MAY 2000

CUVETTES DE REACTION, ENSEMBLE DE TELLES CUVETTES,
APPAREIL DE DOSAGE IMMUNOLOGIQUE ET PROCEDE METTANT EN
OEUVRE DE TELS ENSEMBLES DE CUVETTES

La présente invention se rapporte principalement à des
5 cuvettes de réaction, à des ensembles de telles cuvettes pour appareils
automatiques de dosage immunologique, à des appareils automatiques de
dosage immunologique mettant en oeuvre de tels ensembles de cuvettes et à
un procédé mettant en oeuvre des ensembles de telles cuvettes.

On connaît du FR-9612546, WO-9107662 et WO-9614582
10 des appareils automatiques de dosage immunologique comprenant pour
l'essentiel des moyens de support, de guidage et de déplacement pas à pas
de cuvettes de réaction sur un trajet comprenant un nombre prédéterminé de
positions, un plateau tournant de support d'échantillons à analyser, un plateau
tournant de support de réactifs, des moyens de prélèvement de quantités
15 déterminées d'échantillons et de réactifs et d'injection de ces prélèvements
dans les cuvettes de réaction, des moyens de lavage des cuvettes, des
moyens de lecture optique des résultats de dosage et un système
informatique de commande permettant l'exécution de cycles d'analyse
préalablement programmés, correspondant à des dosages du type
20 monoréactif ou bi-réactif, ces appareils connus ayant une cadence de
fonctionnement de l'ordre de 120 dosages par heure à 360 dosages par
heure pour le second.

L'appareil décrit dans la Demande Internationale
WO-9614582 se distingue en outre en ce qu'il est conçu pour fonctionner
25 avec des modules de réaction qui sont des pièces moulées en matière
plastique transparente comprenant plusieurs cuvettes de réaction alignées et
solidaires les unes des autres, ces modules de réaction étant fabriqués en
grande série à un prix de revient très faible, ce qui permet de les jeter après
un usage unique. De plus, ces modules de réaction sont empilables ou
30 gerbables, ce qui facilite leur conditionnement ainsi que leur empilement dans
des moyens d'alimentation automatique de l'appareil.

FR-9612546 propose un appareil du type précité, comprenant
des moyens de support, de guidage et de déplacement pas à pas
d'ensembles de cuvettes de réaction sur un trajet comprenant un nombre
35 prédéterminé de positions, des moyens de support d'échantillons à analyser,
des moyens de support de réactifs, des moyens de prélèvement de quantités
déterminées d'échantillons et de réactifs et d'injection de ces prélèvements

dans les cuvettes de réaction, ainsi que des moyens de lavage des cuvettes, des moyens de lecture des résultats et des moyens d'alimentation en ensembles de cuvettes de réaction et d'éjection des ensembles de cuvettes usagés, caractérisé en ce que le trajet des ensembles de cuvettes de réaction
5 est de forme rectangulaire et comprend deux grands côtés définis par des rails rectilignes parallèles de support et de guidage des ensembles de cuvettes et deux petits côtés définis par des moyens de déplacement transversal des ensembles de cuvettes sur trois positions comprenant deux positions d'extrémité sur les grands côtés du trajet et une position
10 intermédiaire qui constitue la position d'éjection d'un ensemble de cuvettes usagées et la position d'alimentation d'un ensemble de cuvettes neuves.

Ces appareils utilisent des moyens de lecture colorimétrique des résultats à travers les parois transparentes à la lumière des cuvettes.

On connaît, d'autre part, des appareils automatiques de
15 dosage immunologique munis de moyens de lecture de luminescence de mélange réactionnel. Les appareils de type connu comportent une chambre noire munie de moyens photométriques de mesure de luminosité, des moyens de transfert de mélanges réactionnels à partir d'une cuvette dans la chambre noire, des moyens de lavage de la chambre noire et des moyens de
20 transfert, des moyens de décontamination de la chambre noire et des moyens de transfert. Il en résulte que de tels appareils automatiques de dosage immunologique sont extrêmement complexes et présentent un prix de revient élevé.

C'est par conséquent un but de la présente invention d'offrir
25 un appareil de dosage immunologique simple comportant des moyens de détection de luminescence de mélange réactionnel.

C'est également un but de la présente invention d'offrir un appareil extrêmement fiable fournissant systématiquement des résultats justes et pertinents.

30 C'est aussi un but de la présente invention d'offrir un tel appareil susceptible de travailler à des cadences élevées.

C'est également un but de la présente invention d'offrir un appareil présentant un prix de revient modéré.

Ces buts sont atteints selon la présente invention en mettant
35 en oeuvre une détection photométrique de luminescence d'un mélange réactionnel se trouvant dans une cuvette de réaction, l'appareil et/ou la

cuvette assurant l'étanchéité à la lumière pour éviter qu'une entrée de lumière externe fausse la mesure. Avantageusement, les ensembles de cuvettes selon la présente invention sont réalisés dans un matériau opaque.

De manière préférée, on effectue le test d'étanchéité à la
5 lumière de chaque ensemble formé par le dispositif de détection photométrique associé à une cuvette remplie de mélange réactionnel.

L'invention a principalement pour objet une cuvette de réaction pour appareil automatique de dosage immunologique comportant des parois en forme de cuvette de recueil d'un échantillon à tester, d'un réactif
10 de test et d'un substrat couplé avec une substance chimioluminescente ainsi qu'une ouverture de remplissage caractérisée en ce que les parois sont étanches à la lumière susceptible d'être émise par la substance chimioluminescente à l'exception d'une fenêtre de lecture d'intensité de la lumière susceptible d'être émise par le mélange réactionnel formé par
15 l'échantillon à tester, le réactif et le substrat.

L'invention a aussi pour objet une cuvette caractérisée en ce que la fenêtre de lecture correspond à l'ouverture de remplissage de la cuvette.

L'invention a également pour objet une cuvette caractérisée
20 en ce que la fenêtre de lecture est entourée par une zone sensiblement plane d'application d'un pâtin étanche à la lumière.

L'invention a aussi pour objet un ensemble monobloc de cuvettes de réaction multiples caractérisé en ce qu'il comporte une pluralité de cuvettes.

25 L'invention a également pour objet un appareil automatique de dosage immunologique, comprenant des moyens de support, de guidage et de déplacement pas à pas de cuvette ou d'ensembles de cuvettes de réaction sur un trajet comprenant un nombre prédéterminé de positions, des moyens de support d'échantillons à analyser, des moyens de support de
30 réactifs, des moyens de prélèvement de quantités déterminées d'échantillons et de réactifs et d'injection de ces prélèvements dans les cuvettes de réaction, ainsi que des moyens de lavage des cuvettes, des moyens de lecture des résultats et des moyens d'alimentation en ensembles de cuvettes de réaction et d'éjection des ensembles de cuvettes usagées, caractérisé en ce qu'il
35 comporte des moyens formant une chambre noire provisoire, étanche à la lumière externe, ladite chambre noire comprenant des moyens

photométriques de mesure de l'intensité de la lumière et une cuvette ou une cuvette d'un ensemble de cuvettes.

L'invention a aussi pour objet un appareil caractérisé en ce qu'il comporte un patin opaque d'application de manière étanche à la lumière
5 autour d'une fenêtre de lecture d'une cuvette de réaction munie d'une ouverture centrale de passage de la lumière entre la cuvette et des moyens photométriques.

L'invention a également pour objet un appareil caractérisé en ce qu'il comporte une platine de réception des moyens de lavage et des
10 moyens photométriques.

L'invention a aussi pour objet un appareil caractérisé en ce que les moyens photométriques comportent un équipement mobile assurant l'application du patin sur la fenêtre de lecture de la cuvette réactionnelle.

L'invention a également pour objet un appareil caractérisé en
15 ce qu'il comporte un obturateur d'isolation optique d'un détecteur photoélectrique, notamment d'un photomultiplicateur et des moyens de mesure des valeurs électriques délivrées par le détecteur photoélectrique lorsqu'il est plongé dans le noir, l'obturateur étant fermé.

L'invention a aussi pour objet un appareil caractérisé en ce
20 que le déplacement de l'équipage mobile assure la fermeture ou l'ouverture de l'obturateur.

L'invention a également pour objet un appareil caractérisé en ce qu'il comporte une source de lumière éclairant, sur commande, l'extérieur de la chambre noire formée provisoirement par les parois de la cuvette et les
25 moyens photométriques pour permettre un test d'étanchéité à la lumière de la chambre noire, le test immunologique étant rejeté si les moyens photométriques détectent la lumière émise par la source de test d'étanchéité à la lumière.

L'invention a aussi pour objet un appareil caractérisé en ce
30 qu'il effectue un test d'étanchéité à la lumière pour chaque cuvette réactionnelle subissant un test immunologique.

L'invention a également pour objet un procédé automatique de dosage immunologique comportant une étape de détection d'une lumière éventuellement émise par un substrat couplé avec une substance chimique
35 luminescente en présence d'un réactif et d'un échantillon à tester, caractérisé

en ce qu'il comporte une étape de mesure d'intensité lumineuse présente à l'intérieur d'une cuvette réactionnelle.

L'invention a aussi pour objet un procédé caractérisé en ce qu'on forme une chambre noire provisoire avec une cuvette de réaction à paroi opaque et des moyens photométriques.

L'invention sera mieux comprise au moyen de la description ci-après et des figures annexées données comme des exemples non limitatifs et sur lesquels :

- la figure 1 est une vue de dessus de l'ensemble préféré de réalisation des cuvettes selon la présente invention ;

- la figure 2 est une vue en perspective de l'ensemble de la figure 1 ;

- la figure 3 est une vue schématique en plan de l'exemple préféré de réalisation d'un appareil selon la présente invention ;

- la figure 4 est une vue schématique en élévation d'un dispositif de lavage et de détection de l'appareil de la figure 3, des ensembles de cuvettes étant représentés en plan à la même échelle ;

- la figure 5 est une vue en coupe verticale d'un dispositif de mesure photométrique mis en oeuvre par l'appareil selon la présente invention dans une condition de repos ou de mesure d'étalonnage de la valeur photométrique du noir ;

- la figure 6 est une vue du dispositif de la figure 5, en coupe verticale selon un plan orthogonal à celui de la figure 5.

Sur les figures 1 à 6 on a utilisé les mêmes références pour désigner les mêmes éléments.

Sur les figures 1 et 2, on peut voir l'exemple préféré de réalisation d'un ensemble 26 de cuvettes 28 de réaction.

Les ensembles 26 de cuvettes 28 de réaction sont réalisés d'une pièce par moulage de matière plastique opaque, notamment du polystyrène chargé et comprennent chacun huit cuvettes de réaction 28 alignées selon l'axe longitudinal 45 de l'ensemble 26 et raccordées les unes aux autres, chaque ensemble comprenant deux rebords longitudinaux supérieurs 30 en forme de L s'étendant au-dessus des extrémités ouvertes des cuvettes 28.

Chaque rebord longitudinal 30 comprend, au niveau de chaque cuvette 28, un orifice tronconique 32 servant au positionnement

précis de l'ensemble 26 dans certains postes de l'appareil selon l'invention, et les faces latérales extérieures des rebords 30 comportent chacune deux nervures verticales 34 destinées à coopérer avec les moyens d'entraînement des ensembles 26.

5 Comme déjà décrit dans la Demande Internationale WO-9614582, les cuvettes 28 sont des tronçons de tube à section rectangulaire, fermés à leur extrémité inférieure et élargis à leur extrémité supérieure, ce qui permet de gerber ou d'empiler verticalement les ensembles 26 en les emboîtant partiellement les uns dans les autres, les parties inférieures des
10 cuvettes 28 d'un ensemble 26 pénétrant dans les extrémités supérieures élargies des cuvettes 28 d'un ensemble inférieur de cuvettes de réaction. Cet emboîtement est facilité par le fait que les faces intérieures des rebords longitudinaux 30 divergent légèrement l'une de l'autre vers le haut à partir des extrémités supérieures ouvertes des cuvettes 28.

15 Des nervures verticales 36 sont formées sur les flancs des extrémités supérieures élargies des cuvettes 28 et s'étendent vers le bas sur une faible distance, les extrémités inférieures de ces nervures 36 étant destinées à buter sur les faces supérieures des rebords 30 d'un ensemble inférieur 26 dans une pile verticale d'ensembles de cuvettes de réaction.

20 Outre leur matière opaque, les ensembles 26 de cuvettes selon la présente invention diffèrent de celles du FR-9612546 et WO-9614582 en ce que chaque ouverture 37 d'une cuvette 28 est entourée par un rebord sensiblement plan 39 permettant l'application d'un patin 41 (figures 4 à 6) opaque, évitant les entrées de lumière externes vers un dispositif de mesure
25 photométrique 43.

Le rebord 39 est avantageusement formé par, d'une part par un espace 39' entre cuvettes et, d'autre part, par deux trottoirs 39" situés entre les parois 30' du rebord 30 et les parois longitudinales 28' des parties supérieures des cuvettes 28.

30 Il est bien entendu que la présente invention n'est nullement limitée à la forme ni à la matière des ensembles 26 des cuvettes réactionnelles 28.

En variante, on peut utiliser des cuvettes ou ensembles de cuvettes adaptées à d'autres modèles d'appareils automatiques des
35 diagnostics immunologiques ou à des cuvettes réalisées en matériau transparent recouvert d'une couche opaque, par exemple d'une métallisation.

De même, on peut envisager la mesure photométrique de luminescence du mélange réactionnel à travers une paroi non entièrement opaque d'une cuvette 28 selon la présente invention à partir du moment où la luminescence provenant d'une cuvette peut être complètement isolée de celle venant des
5 cuvettes voisines.

On peut par exemple envisager de ménager des fenêtres de lecture transparentes ou l'incorporation d'un guide de lumière, par exemple de type fibre optique de faible longueur, dans les fonds ou les parois latérales parallèles à un plan vertical passant par l'axe longitudinal 45 de l'ensemble
10 26. Dans un tel cas, les moyens de détection photométrique comportent des moyens d'isolation de la cellule en cours de lecture, comme par exemple des caches ou un patin analogue au patin 41.

L'appareil selon l'invention, dont la structure générale est représentée très schématiquement en figure 3, comprend un châssis 10 sur
15 lequel sont montés un plateau tournant 12 de support d'échantillons à analyser, un plateau tournant 14 de support de réactifs de dosage, des moyens 16, 18 de prélèvement d'une quantité déterminée d'échantillons et d'une quantité déterminée de réactifs respectivement et de dépôt de ces quantités prélevées dans une cuvette de réaction, ces moyens étant du
20 même type que ceux qui ont été décrits dans la Demande Internationale WO-9614582 et FR-9612546 dont les contenus sont incorporés ici par référence.

Les réactifs utilisés sont du type à billes magnétiques et l'appareil selon l'invention comprend des moyens 20 de lavage ou de rinçage
25 de ces billes magnétiques, qui sont du même type que ceux déjà décrits dans les Demandes précitées et qui comprennent des aiguilles d'aspiration et d'injection de liquide, à déplacement vertical, et des aimants permanents 53 disposés de chaque côté du trajet des cuvettes de réaction 28 pour attirer, par attraction magnétique, les billes magnétiques des réactifs et les fixer
30 temporairement sur les parois des cuvettes de réaction. Les moyens 20 comprennent également une aiguille de dépôt d'un substrat chimioluminescent dans les cuvettes de réaction 28, agencée immédiatement en aval des aiguilles d'injection et d'aspiration de liquide de lavage.

Des moyens photométriques 22 de lecture optique
35 comportent des moyens 43 de mesure de l'intensité lumineuse correspondant aux longueurs d'ondes de la luminescence du substrat utilisé. On utilise par

exemple un substrat contenant du sel disodique de 4-méthoxy-4-(3-phosphonatephényl)-spiro[1,2-dioxéthane-3,2'-amandane] commercialisé par la Société LUMIGENE sous la référence lumi-Phos 530® émettant dans la lumière visible et dont le pic d'émission correspond sensiblement à 530 nm.

5 Dans un tel cas, on utilise un détecteur de lumière visible dont la bande passante peut éventuellement être réduite par l'emploi d'un filtre laissant passer uniquement les fréquences susceptibles d'être émises. Bien que la mise en oeuvre des détecteurs à l'état solide, notamment à semi-conducteurs ne sorte pas du cadre de la présente invention, l'exemple préféré de
10 réalisation de l'appareil selon la présente invention utilise un tube photomultiplicateur. L'exemple préféré met en oeuvre un photomultiplicateur vendu par la Société HAMAMATSU sous la référence H 7155-20.

Ce type de tube présente l'avantage de pouvoir travailler à température ambiante ce qui permet, dans l'exemple préféré de réalisation,
15 de réaliser une machine dépourvue de cryostats. Toutefois, l'appareil selon la présente invention effectue avantageusement avant chaque mesure de luminescence d'un mélange réactionnel une mesure en absence de lumière, dans le noir, de manière à étalonner la valeur, notamment la tension électrique correspondant au noir complet. On améliore ainsi la fiabilité et la
20 répétabilité des mesures et cela d'autant plus que pour favoriser l'incubation du mélange réactionnel, l'espace de circulation des ensembles 26 est thermostaté, par exemple à 37° C.

La sortie du photomultiplicateur 43 est reliée, par l'intermédiaire des moyens d'interface et d'adaptation, à un calculateur chargé
25 de la supervision de la machine, de l'exploitation des résultats et/ou de leur gestion. Par exemple, la sortie du photomultiplicateur est connectée, à travers des moyens d'adaptation analogiques notamment de type amplificateurs ou adaptateurs de fréquence, à un convertisseur analogique-numérique dont la sortie est reliée à une carte d'acquisition, comptage et commande installée
30 dans un micro-ordinateur, par exemple de type PC (non représentés).

Dans l'exemple avantageux illustré sur les figures 3 et 4, une plantine commune 47 comportant par exemple une platine supérieure 47.1 et une platine inférieure 47.2 (figure 4) porte la tête de lavage 20 et les moyens photométriques 22.

35 Sur la figure 4, les aiguilles d'injection ou de prélèvement portent les références 49, les pions d'indexage pénétrant dans les ouvertures

32 portent la référence 51. Avantageusement, les deux premiers pions d'indexage 51 sont reliés par un ressort 55.

Les ensembles 26 des cuvettes 28 ainsi que des aimants 53 orientés Nord-Sud ou Sud-Nord sont représentées en un plan sur la figure 4
5 pour donner l'échelle de la platine 47 comprenant les moyens 20 et 22.

L'appareil selon l'invention comprend encore des moyens de déplacement d'ensembles de cuvettes de réaction sur un trajet de forme rectangulaire, à une extrémité duquel sont prévus des moyens 24 d'alimentation automatique en ensembles de cuvettes de réaction et
10 d'éjection de ces cuvettes.

Avantageusement, l'appareil selon la présente invention comporte une carrosserie externe et des capots internes en matériau opaque ou partiellement opaque limitant l'arrivée de la lumière au niveau de la fenêtre de lecture des moyens photométriques 22.

15 Avantageusement, l'appareil selon la présente invention comporte une source de lumière 57, par exemple une diode électroluminescente (LED en terminologie anglo-saxonne) permettant de vérifier l'isolation optique de la cavité de mesure formée par la cuvette en cours de mesure associée aux moyens photométriques 22.

20 Dans l'exemple avantageux illustré, notamment sur les figures 5 et 6, les moyens photométriques 22 comportent le photomultiplicateur 43 fixe par rapport à la platine inférieure 47.2 et un équipage mobile 59. L'équipage mobile comporte par exemple un obturateur 61, un guide de lumière 63 logé dans une conduite tubulaire rigide opaque 65 débouchant au
25 niveau d'une ouverture 67 du patin opaque 41. Un rail 67 assure le guidage entre une position basse représentée sur la figure 5, dans laquelle l'obturateur 61 assure l'isolement optique du photomultiplicateur 43 par rapport au guide de lumière 63 et une position haute, illustrée sur la figure 6, dans laquelle l'obturateur 61 s'efface de manière à permettre la communication entre le
30 guide de lumière 63 et le photomultiplicateur 43.

Des moyens de rappels 69, par exemple un ressort hélicoïdal entourant la conduite tubulaire rigide 65 assurent le retour de l'équipage mobile 59 vers la position basse de la figure 5. Dans l'exemple avantageux illustré, l'obturateur 61 est un obturateur rotatif autour d'un axe de rotation 71
35 et comporte des moyens de rappels, par exemple un ressort hélicoïdal 73 travaillant en traction assurant le rappel vers la position fermée. Dans

l'exemple non limitatif illustré, l'obturateur 61 obstrue l'extrémité du guide des lumières 63 dans la position basse de l'équipage mobile 59 illustré sur la figure 5 et s'efface dans la position haute de l'équipage mobile 59 illustré sur la figure 6.

5 Il est bien entendu que la mise en oeuvre d'autres types d'obturateurs, notamment d'obturateurs linéaires, d'obturateurs à rideaux ou d'obturateurs masquant une fenêtre d'entrée du photomultiplicateur 43 ou même la mise en oeuvre des moyens photométriques 22 dépourvus d'obturateur ne sort pas du cadre de la présente invention.

10 L'appareil selon la présente invention fonctionne de la façon suivante :

L'appareil 10 est chargé, d'une part avec les réactifs et le substrat et, d'autre part, avec les échantillons (sérum) à tester.

15 Lors d'un premier tour d'une durée de 15 minutes, les cuvettes 28 des ensembles 26 reçoivent par l'intermédiaire du dispositif 16 les échantillons à tester. Les ensembles 26 sont entraînés par la courroie 40.

Lors d'un deuxième tour d'une durée de 15 minutes, les cuvettes 28 reçoivent à partir du dispositif 18 les réactifs.

20 Lors d'un troisième tour de 15 minutes, les moyens 20 assurent le lavage des billes magnétiques et on assure l'introduction du substrat luminescent.

Lors du tour suivant (de 15 minutes), s'effectue la révélation puis la lecture du résultat de test. Avantagusement, pour la lecture de chaque cuvette 28, on effectue tout d'abord un étalonnage du niveau de noir, 25 c'est-à-dire une lecture de la tension disponible en sortie du photomultiplicateur 43 lorsque l'obturateur 61 est fermé (position basse illustrée sur la figure 5) ; puis un actionneur (non représenté) applique l'équipage mobile 59 sur l'entrée 37 d'une cuvette 28. Plus précisément, on applique le patin 41 sur le pourtour 39 de la cuvette 28 à lire. Le pion de 30 positionnement 51 assure un positionnement précis avec superposition de l'ouverture 67 du patin 41 avec l'entrée 37 de la cuvette 28.

Dans un premier exemple de réalisation, l'ensemble 26 de cuvette 28 remonte et assure la remontée de l'équipage mobile. Dans l'exemple préféré de réalisation, un actionneur fait descendre la platine 35 inférieure 47.2, ce qui assure la remontée relative de l'équipage mobile 59 par rapport à la platine 47.

Le mouvement de l'équipage mobile 59 assure l'ouverture de l'obturateur et permet la mesure de la luminescence présente dans la cuvette 28.

L'équipage mobile 59 descend par rapport à la platine 47.2 (tel qu'illustré sur la figure 5), on allume la source de lumière 57, et on effectue une nouvelle mesure assurant le contrôle d'étanchéité à la lumière de la chambre noire provisoire formée par l'ensemble photométrique 22 et la cuvette 28 en cours de mesure. Si la valeur de luminescence obtenue lors du test d'étanchéité à la lumière est supérieure à la valeur obtenue lors de la mesure, on considère que le résultat de mesure n'est pas fiable. Le résultat de test est rejeté et, avantageusement, le test est répété en mettant en oeuvre un nouveau mélange réactionnel comportant le même échantillon et le même réactif déposés dans une nouvelle cuvette 28.

Il est bien entendu que le contrôle d'étanchéité à la lumière peut être effectué antérieurement à la mesure de luminescence sans sortir du cadre de la présente invention.

De même, la mesure du niveau de la tension en sortie du photomultiplicateur 43, obturateur 61 fermé peut être effectuée périodiquement, mais pas nécessairement pour toutes les mesures.

La présente invention s'applique notamment à la détection de la présence d'une substance chimique ou biologique dans un échantillon.

La présente invention s'applique principalement à l'analyse et à la recherche médicale.

REVENDEICATIONS

1. Cuvette de réaction pour appareil automatique de dosage immunologique comportant des parois en forme de cuvette de recueil d'un échantillon à tester, d'un réactif de test et d'un substrat couplé avec une substance chimioluminescente ainsi qu'une ouverture de remplissage (37) caractérisée en ce que les parois sont étanches à la lumière susceptible d'être émise par la substance chimioluminescente à l'exception d'une fenêtre de lecture d'intensité de la lumière susceptible d'être émise par le mélange réactionnel formé par l'échantillon à tester, le réactif et le substrat.
2. Cuvette selon la revendication 1, caractérisée en ce que la fenêtre de lecture correspond à l'ouverture (37) de remplissage de la cuvette.
3. Cuvette selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que la fenêtre de lecture est entourée par une zone (39) sensiblement plane d'application d'un patin (41) étanche à la lumière.
4. Ensemble monobloc de cuvettes de réaction multiples caractérisé en ce qu'il comporte une pluralité de cuvettes (28) selon l'une quelconque des revendications précédentes.
5. Appareil automatique de dosage immunologique, comprenant des moyens de support, de guidage et de déplacement pas à pas de cuvette (28) selon la revendication 1 à 3 ou d'ensembles (26) de cuvettes de réaction (28) selon la revendication 4 sur un trajet comprenant un nombre prédéterminé de positions, des moyens (12) de support d'échantillons à analyser, des moyens (14) de support de réactifs, des moyens (16, 18) de prélèvement de quantités déterminées d'échantillons et de réactifs et d'injection de ces prélèvements dans les cuvettes de réaction (28), ainsi que des moyens (20) de lavage des cuvettes, des moyens (22) de lecture des résultats et des moyens (24) d'alimentation en ensembles de cuvettes de réaction et d'éjection des ensembles de cuvettes usagées, caractérisé en ce qu'il comporte des moyens (41, 65, 43) formant une chambre noire provisoire, étanche à la lumière externe, ladite chambre noire comprenant des moyens photométriques (22) de mesure de l'intensité de la lumière et une cuvette (28) selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 ou une cuvette d'un ensemble (26) de cuvettes selon la revendication 4.
6. Appareil selon la revendication 5, caractérisé en ce qu'il comporte un patin opaque (41) d'application de manière étanche à la lumière autour d'une fenêtre de lecture d'une cuvette de réaction (28) munie d'une

ouverture centrale (67) de passage de la lumière entre la cuvette (28) et des moyens photométriques (22).

7. Appareil selon la revendication 5 ou 6, caractérisé en ce qu'il comporte une platine (47) de réception des moyens (20) de lavage et des
5 moyens photométriques (22).

8. Appareil selon la revendication 6 ou 7, caractérisé en ce que les moyens photométriques comportent un équipage mobile (59) assurant l'application du patin (41) sur la fenêtre de lecture (37) de la cuvette réactionnelle (28).

9. Appareil selon l'une quelconque des revendications 5 à 8, caractérisé en ce qu'il comporte un obturateur (61) d'isolation optique d'un
10 détecteur photoélectrique (43), notamment d'un photomultiplicateur et des moyens de mesure des valeurs électriques délivrées par le détecteur photoélectrique (43) lorsqu'il est plongé dans le noir, l'obturateur (61) étant
15 fermé.

10. Appareil selon les revendications 7, 8 ou 9, caractérisé en ce que le déplacement de l'équipage mobile (59) assure la fermeture ou l'ouverture de l'obturateur (61).

11. Appareil selon l'une quelconque des revendications
20 précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte une source de lumière (57) éclairant, sur commande, l'extérieur de la chambre noire formée provisoirement par les parois de la cuvette (28) et les moyens photométriques (22) pour permettre un test d'étanchéité à la lumière de la chambre noire, le test immunologique étant rejeté si les moyens photométriques détectent la
25 lumière émise par la source de test d'étanchéité à la lumière.

12. Appareil selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il effectue un test d'étanchéité à la lumière pour chaque cuvette réactionnelle (28) subissant un test immunologique.

13. Procédé automatique de dosage immunologique
30 comportant une étape de détection d'une lumière éventuellement émise par un substrat couplé avec une substance chimique luminescente en présence d'un réactif et d'un échantillon à tester, caractérisé en ce qu'il comporte une étape de mesure d'intensité lumineuse présente à l'intérieur d'une cuvette réactionnelle (28).

14. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'on forme une chambre noire provisoire avec une cuvette de réaction (28) à paroi opaque et des moyens photométriques (22).

1/4

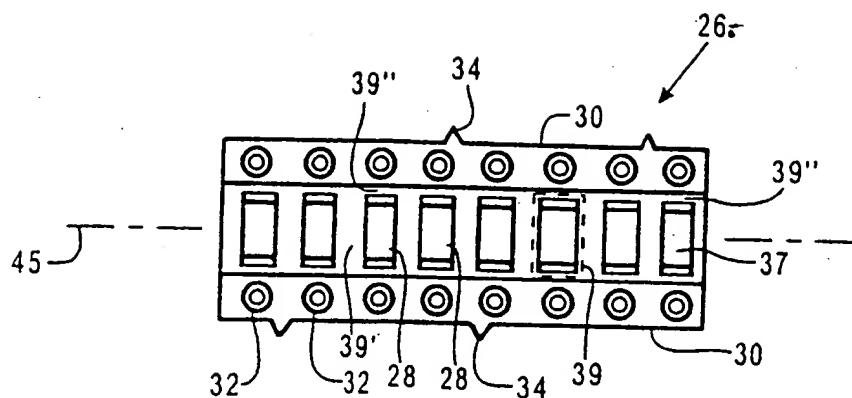


FIG. 1

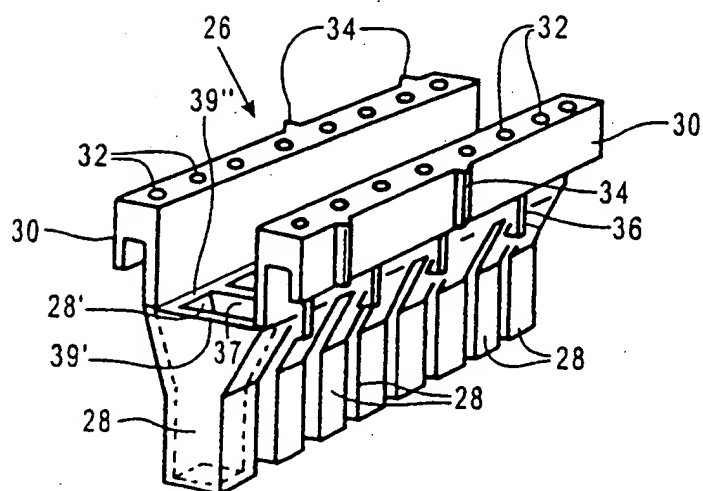


FIG. 2

102

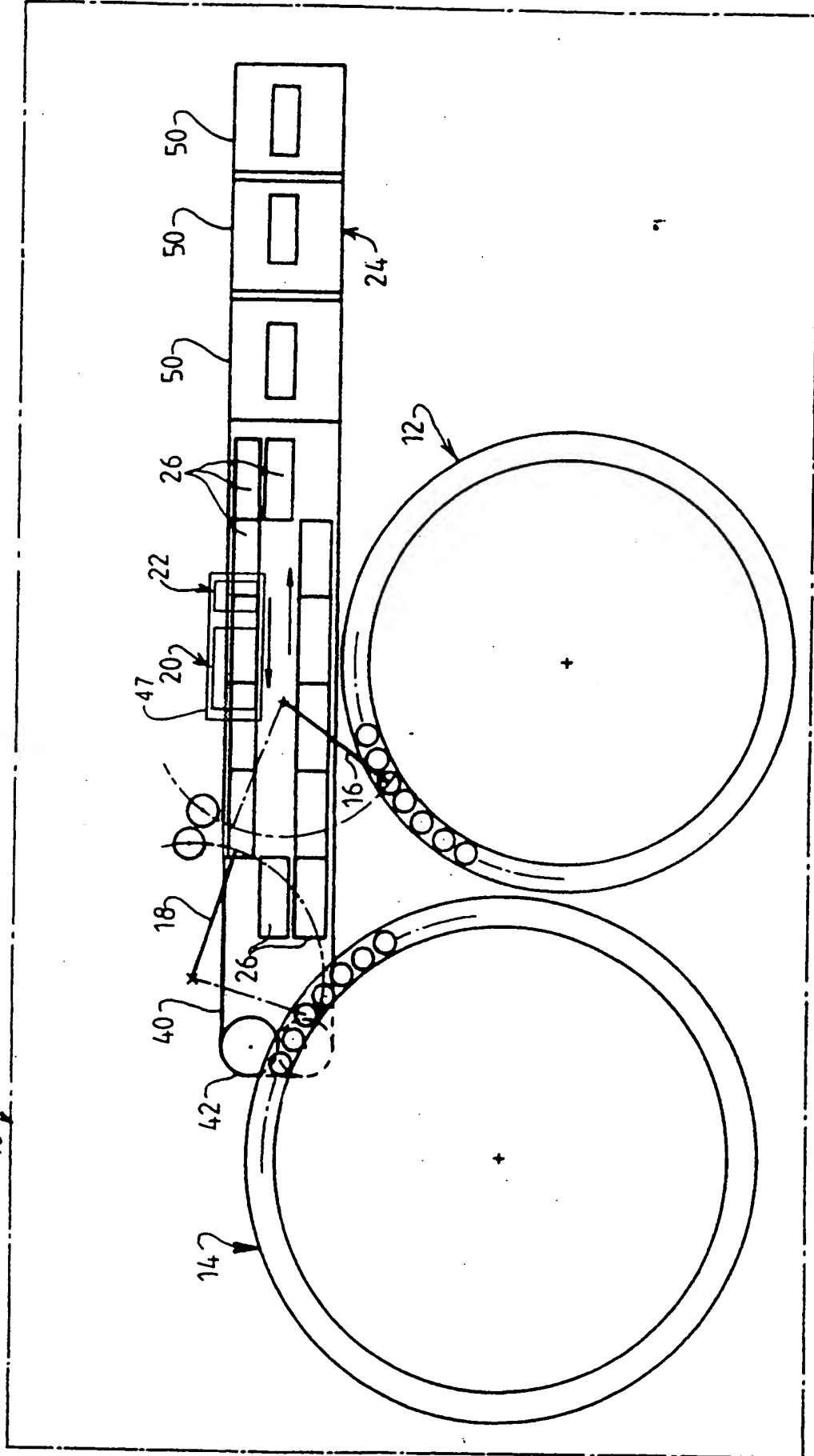
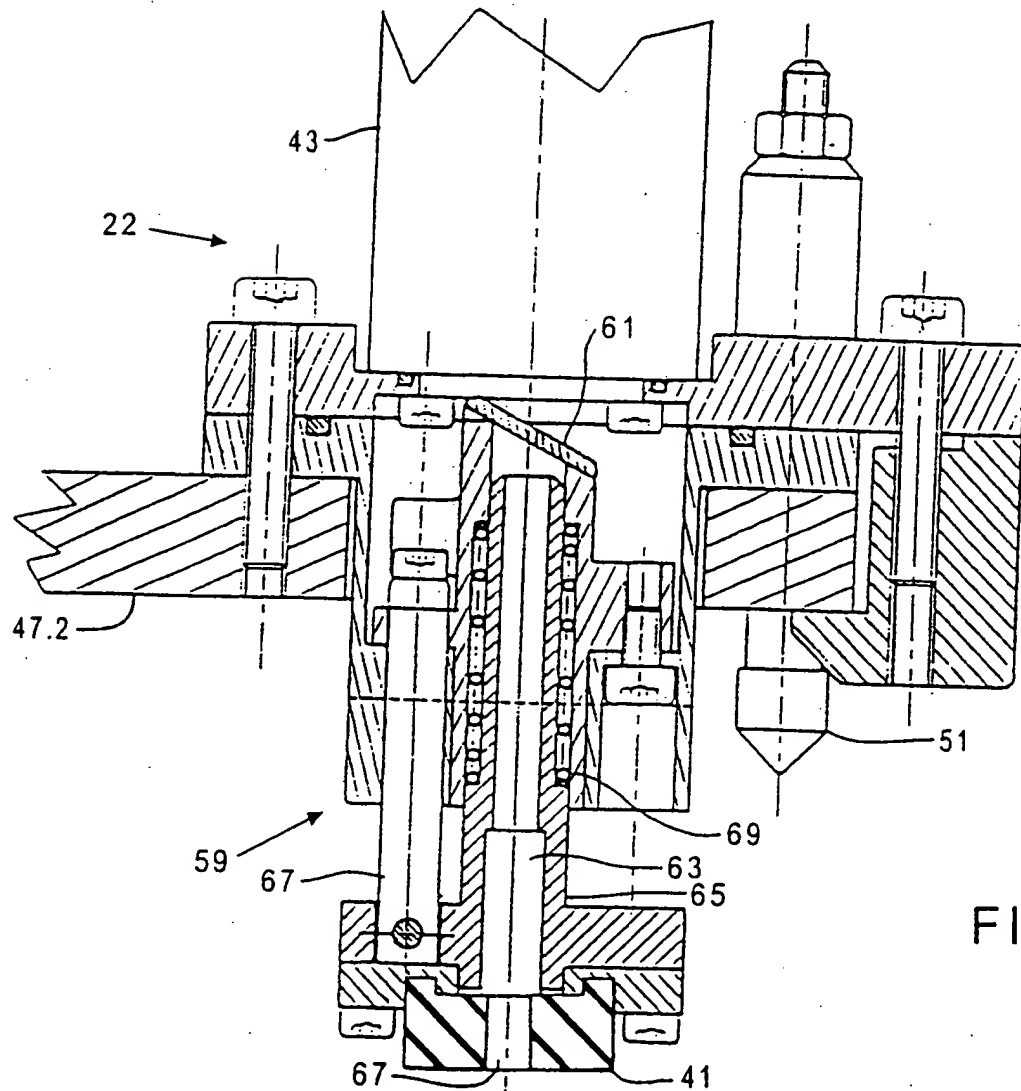
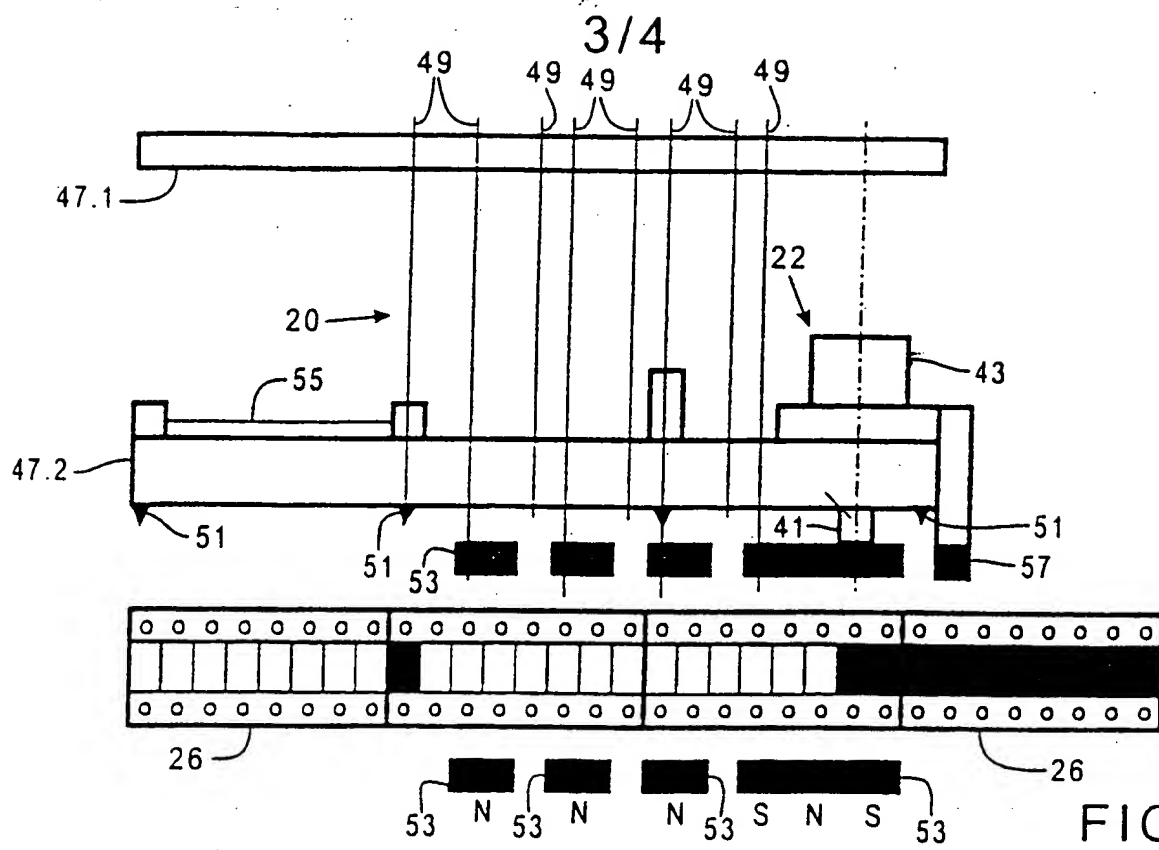


FIG. 3



4/4

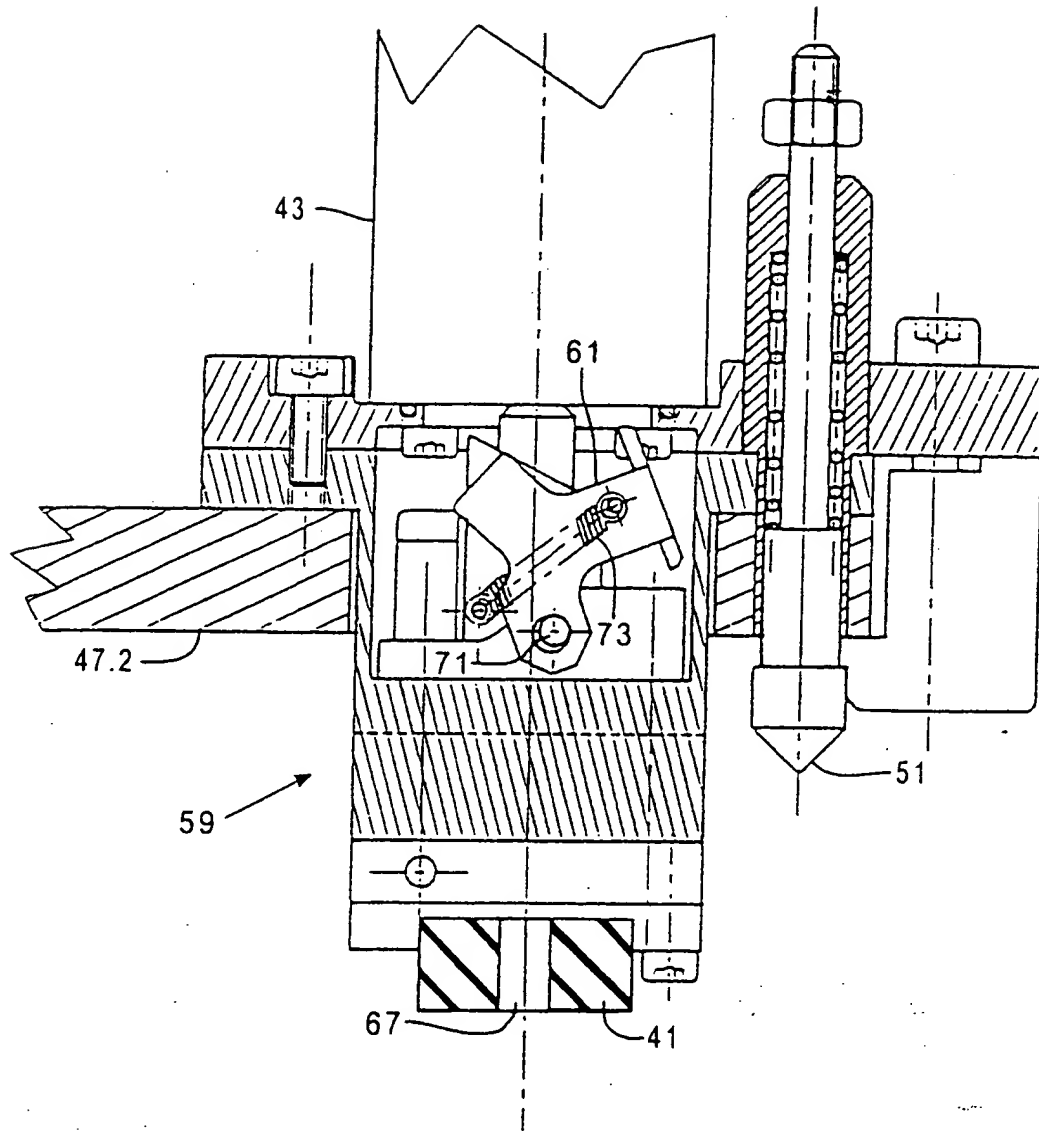


FIG. 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/02170

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N21/76 G01N21/03

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 643 535 A (SMETHERS RICK T ET AL) 1 July 1997 (1997-07-01) column 1, line 31 -column 2, line 33 column 5, line 13 - line 22; figures 3B,5A	1-4, 13, 14
Y	column 6, line 6 -column 7, line 10; figures 5A,5B	5-10
A	column 8, line 40 -column 9, line 65; figures 8,9	11
Y	EP 0 837 331 A (MERCK CLEVENOT LAB) 22 April 1998 (1998-04-22) cited in the application column 1, line 3 - line 6; figures --- -/--	5-10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 1999

Date of mailing of the international search report

20/12/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/02170

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017, no. 553 (P-1625), 5 October 1993 (1993-10-05) -& JP 05 157699 A (HAMAMATSU PHOTONICS KK), 25 June 1993 (1993-06-25) abstract; figures -----	1-4
A	US 5 482 839 A (MINAKAWA HIDETAKA ET AL) 9 January 1996 (1996-01-09) column 2, line 16 - line 51 column 6, line 20 - line 38; figure 2 column 8, line 45 - line 67; figures 13,14 -----	5-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Appl. No.

PCT/FR 99/02170

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5643535 A	01-07-1997	US 5716583 A	10-02-1998
		US 5401465 A	28-03-1995
		CA 2135170 A	11-11-1993
		EP 0725929 A	14-08-1996
		JP 10293098 A	04-11-1998
		JP 2802835 B	24-09-1998
		JP 7506433 T	13-07-1995
		WO 9322657 A	11-11-1998
EP 0837331 A	22-04-1998	FR 2754599 A	17-04-1998
		CA 2218442 A	15-04-1998
JP 05157699 A	25-06-1993	NONE	
US 5482839 A	09-01-1996	US 5290708 A	01-03-1994
		AU 660814 B	06-07-1995
		AU 4169793 A	14-10-1993
		AU 640762 B	02-09-1993
		AU 7397791 A	03-10-1991
		CA 2039322 A	01-10-1991
		DE 69130303 D	12-11-1998
		DE 69130303 T	20-05-1999
		EP 0449321 A	02-10-1991
		ES 2124691 T	16-02-1999
		JP 4218775 A	10-08-1992
		KR 9514745 B	14-12-1995
		US 5158895 A	27-10-1994
		JP 2946831 B	06-09-1999
		JP 4230859 A	19-08-1992
		JP 5040122 A	19-02-1993

Hocquet, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

demande intern. No

PCT/FR 99/02170

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017, no. 553 (P-1625), 5 octobre 1993 (1993-10-05) -& JP 05 157699 A (HAMAMATSU PHOTONICS KK), 25 juin 1993 (1993-06-25) abrégé; figures ---	1-4
A	US 5 482 839 A (MINAKAWA HIDETAKA ET AL) 9 janvier 1996 (1996-01-09) colonne 2, ligne 16 - ligne 51 colonne 6, ligne 20 - ligne 38; figure 2 colonne 8, ligne 45 - ligne 67; figures 13,14 -----	5-10

RAFFORTI DE RECHERHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres des familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 99/02170

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5643535 A	01-07-1997	US 5716583 A	10-02-1998
		US 5401465 A	28-03-1995
		CA 2135170 A	11-11-1993
		EP 0725929 A	14-08-1996
		JP 10293098 A	04-11-1998
		JP 2802835 B	24-09-1998
		JP 7506433 T	13-07-1995
		WO 9322657 A	11-11-1998
EP 0837331 A	22-04-1998	FR 2754599 A	17-04-1998
		CA 2218442 A	15-04-1998
JP 05157699 A	25-06-1993	AUCUN	
US 5482839 A	09-01-1996	US 5290708 A	01-03-1994
		AU 660814 B	06-07-1995
		AU 4169793 A	14-10-1993
		AU 640762 B	02-09-1993
		AU 7397791 A	03-10-1991
		CA 2039322 A	01-10-1991
		DE 69130303 D	12-11-1998
		DE 69130303 T	20-05-1999
		EP 0449321 A	02-10-1991
		ES 2124691 T	16-02-1999
		JP 4218775 A	10-08-1992
		KR 9514745 B	14-12-1995
		US 5158895 A	27-10-1994
		JP 2946831 B	06-09-1999
		JP 4230859 A	19-08-1992
		JP 5040122 A	19-02-1993

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire PJ1299-31PCT	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 99/ 02170	Date du dépôt international (jour/mois/année) 13/09/1999	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 11/09/1998
Déposant BIOTROL DIAGNOSTIC et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la langue, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.
- ☐ la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.
- b. En ce qui concerne les séquences de nucléotides ou d'acides aminés divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :
- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remise ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remise ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).
3. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le titre,

- ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
- ☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,

- ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
- ☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°

- ☒ suggérée par le déposant.
- ☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
- ☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

2

☐ Aucune des figures n'est à publier.

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017, no. 553 (P-1625), 5 octobre 1993 (1993-10-05) -& JP 05 157699 A (HAMAMATSU PHOTONICS KK), 25 juin 1993 (1993-06-25) abrégé; figures	1-4
A	US 5 482 839 A (MINAKAWA HIDETAKA ET AL) 9 janvier 1996 (1996-01-09) colonne 2, ligne 16 - ligne 51 colonne 6, ligne 20 - ligne 38; figure 2 colonne 8, ligne 45 - ligne 67; figures 13,14	5-10

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5643535	A	01-07-1997	US 5716583 A	10-02-1998
			US 5401465 A	28-03-1995
			CA 2135170 A	11-11-1993
			EP 0725929 A	14-08-1996
			JP 10293098 A	04-11-1998
			JP 2802835 B	24-09-1998
			JP 7506433 T	13-07-1995
			WO 9322657 A	11-11-1998
EP 0837331	A	22-04-1998	FR 2754599 A ⁺	17-04-1998
			CA 2218442 A	15-04-1998
JP 05157699	A	25-06-1993	NONE	
US 5482839	A	09-01-1996	US 5290708 A	01-03-1994
			AU 660814 B	06-07-1995
			AU 4169793 A	14-10-1993
			AU 640762 B	02-09-1993
			AU 7397791 A	03-10-1991
			CA 2039322 A	01-10-1991
			DE 69130303 D	12-11-1998
			DE 69130303 T	20-05-1999
			EP 0449321 A	02-10-1991
			ES 2124691 T	16-02-1999
			JP 4218775 A	10-08-1992
			KR 9514745 B	14-12-1995
			US 5158895 A	27-10-1994
			JP 2946831 B	06-09-1999
			JP 4230859 A	19-08-1992
			JP 5040122 A	19-02-1993